

# 细胞产品手册

OriCell® NCI-H446

人小细胞肺癌细胞系

产品货号：H0-3201



## 产品介绍

人小细胞肺癌细胞系（NCI-H446）源于1982年由CarneyD和GazdarAF等从一名患有小细胞癌的61岁白人男性患者的胸膜液中分离出来。细胞原始形态并没有小细胞肺癌特征，这个细胞株是小细胞肺癌的生化 and 形态学上的变种，表达神经元特有的烯醇酶和脑部肌酸激酶同工酶。培养过程中贴壁细胞与悬浮细胞同时存在。

NCI-H446 常用于基于蛋白组学分析旋毛虫原肌球蛋白过表达对小细胞肺癌 NCI-H446 细胞蛋白组分的影响、阿帕替尼联合 CCI-779 体外抑制小细胞肺癌细胞株 NCI-H446 的增殖和迁移等研究。

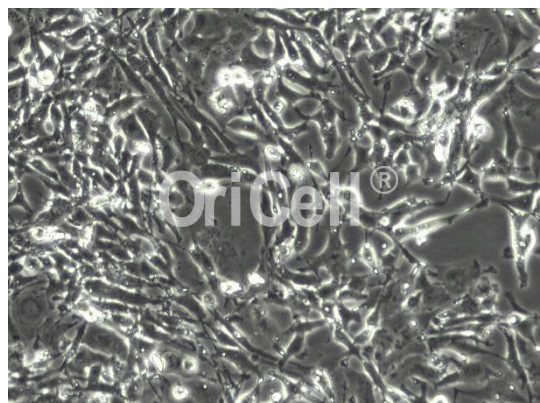
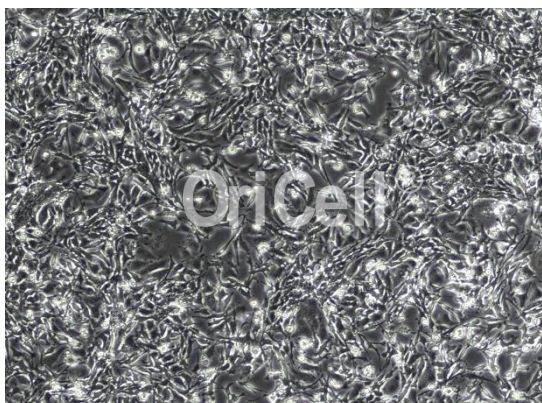
**注意：**本产品仅提供给进一步科研使用，不可用于临床治疗等其他用途。

## 产品信息

产品名称	人小细胞肺癌细胞系
简称	NCI-H446
别称	H446、H-446、NCI-446、NCIH446
货号	H0-3201
规格	1×10 <sup>6</sup> 个/管 或 1×10 <sup>6</sup> 个/瓶
组织来源	人肺
细胞特性	半贴半悬；上皮样细胞
培养条件	95% 空气；5%CO <sub>2</sub> ；37℃
培养基	RPMI-1640+10%FBS
倍增时间	90~100 h
生物安全等级	1
保存条件	液氮（-196℃）
注意事项	建议培养前在培养容器中铺明胶

**注意：**本产品在生产过程中严格控制无菌。后续培养请根据实际情况选择是否添加抗生素。

## OriCell® NCI-H446 细胞系在倒置相差显微镜下的形态



## 成瘤数据验证

Fig. The Tumor Growth Curves of NCI-H446 Cancer Xenograft Model

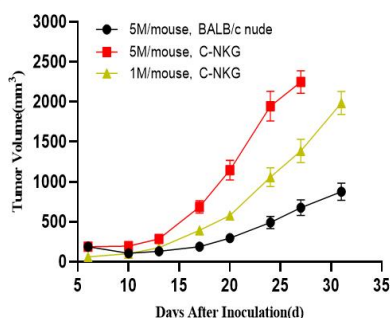


Fig. The Body Weight Change Curves of NCI-H446 Cancer Xenograft Model

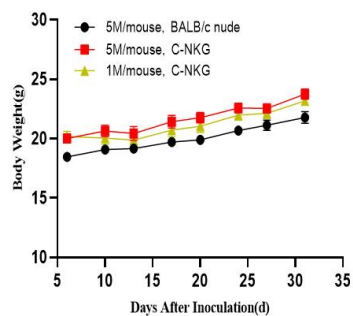


图 1. 肺癌细胞 NCI-H446 皮下移植肿瘤体积生长曲线及小鼠体重变化曲线 (n=5)。

将细胞以皮下注射的形式接种到 7 周的 C-NKG 和 BALB/c nude 小鼠体内，并在不同的时间点测量成瘤体积。细胞接种量为  $5 \times 10^6$ /只和  $1 \times 10^6$ /只，数据以 Mean $\pm$ SEM 形式呈现。结果显示 NCI-H446 在 C-NKG 和 BALB/c nude 容易成瘤。肿瘤体积预计在接种后 5-6 天达到 100-200mm<sup>3</sup>，在接种后 31 天达到 2000mm<sup>3</sup> 实验终点，给药窗口期预计在 25 天左右。

## 使用本细胞发表的文献需注明：

NCI-H446 cell lines (OriCell, Catalog H0-3201) were purchased from Cyagen Biosciences (Guangzhou) Inc.

## 质量控制

- 通过细菌、真菌、支原体、内毒素检测。
- 通过细胞复苏活力检测。
- 通过 STR 检测。

详情见《产品检测报告》。

## 处理原则

1. 严格的无菌环境。务必保证实验室整体、超净台和培养箱的清洁。
2. 规范的操作方式。请按照产品说明书描述的方式操作，严格控制变量，做好对照实验。
3. 需要合适的、质量可靠的实验耗材和试剂。本产品需使用适合贴壁细胞生长的培养容器，且不建议重复使用。使用的试剂必须经验证可靠，适宜细胞生长且批间差异小。

**注意：**本产品冻存液中含有 DMSO，其具有潜在风险，请谨慎处理。

本产品说明书中使用的试剂简写规则如下：

简写	名称	货号
FBS	Fetal Bovine Serum 胎牛血清	参考官网信息
BCS	Bovine Calf Serum 小牛血清	SBCST-01001
Glu	Glutamine 谷氨酰胺	SGLU-10201
SP	Sodium Pyruvate 丙酮酸钠	SCSP-10301
Dex	Dexamethasone 地塞米松	SDEX-10401
NBCS	Newborn Calf Serum 新生牛血清	NCSST-01001
HS	Horse Serum 马血清	SCHST-01001
NEAA	Non Essential Amino Acid 非必须氨基酸	NEAA-10201
β-mer	β-mercaptoethanol β-巯基乙醇	BMER-10301
P/S	Penicillin- Streptomycin 青霉素-链霉素（双抗）	ATPS-10001
ITS	Insulin、Transferrin、Selenite 胰岛素、转铁蛋白、亚硒酸添加物	ITSS-10201

## 细胞的复苏和培养

### 所需材料

- OriCell® NCI-H446 细胞
- 适宜细胞生长的完全培养基

**注意：**收到的细胞如 24 h 内复苏，可存放于-80℃冰箱；超过 24 h 请存放于液氮中，复苏前 10 min 取出，放于-80℃，让管中液氮挥发。

## 操作步骤

1. 水浴锅 37°C 预热。
2. 完全培养基温浴到 37°C。
3. 在 15 mL 离心管中加入 5 mL 以上完全培养基备用。
4. 从 -80°C 冰箱中取出细胞，放入 37°C 水浴锅中，快速晃动，使冻存液迅速融化。  
**注意：**1) 融化过程必须晃动冻存管，保证冻存液融化迅速、均匀；  
2) 晃动时应避免水没过管盖造成污染；  
3) 管内冻存液融化至只剩一个约 2 mm 直径的冰晶时，即停止水浴。继续晃动冻存管，至冰晶融化。
5. 用 75% 医用酒精擦拭冻存管外表面。
6. 在超净台中打开冻存管，用巴氏吸管或移液枪吸取细胞冻存悬液，转移至先前准备的离心管中。
7. 用 1 mL 完全培养基洗涤冻存管 1 次，收集残留细胞，减少损失。
8. 细胞悬液以 250×g 离心 4 min。  
**注意：**请以公式  $a = \omega^2 r$  ( $a$ : 向心加速度;  $\omega$ : 旋转角速度,  $\omega = \pi n / 30$ ;  $r$ : 转子半径) 计算相应转速。
9. 离心后去除上清。加入 2 mL 完全培养基，轻柔吹打细胞沉淀，充分吹散、混匀。
10. 将细胞接种到 1 个 T25 培养瓶或底面积相当的培养容器中。加入足量完全培养基，1 个 T25 培养瓶中培养基总量不少于 5 mL。
11. 摇匀细胞，放入 37°C、5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的 CO<sub>2</sub> 培养箱中。  
**注意：**接种 2 h 内不可移动、观察细胞。这会严重影响细胞贴壁，造成状态不佳、细胞聚团、贴壁不均匀等情况。
12. 复苏次日，观察细胞状态，并更换新鲜的完全培养基或传代。  
**注意：**若发现大量漂浮细胞或其他异常情况，应及时排查原因，并与我们联系。
13. 之后，每 3 天更换一次完全培养基，直到细胞汇合度至 95% 以上，即需传代。

## 常温细胞接收处理

### 所需材料

- OriCell® NCI-H446 细胞
- 适宜细胞生长的完全培养基
- 75%医用酒精
- 数个无菌的 EP 管
- 两个无菌的 50 mL 离心管

**注意：**1) 收到常温运输的细胞，取出细胞培养瓶后请仔细核对标签信息；

2) 检查培养基是否浑浊；

3) 瓶身有无裂痕；

4) 瓶口有无培养基渗漏。

如有任何异常情况，请及时与我们联系。

### 操作步骤

1. 用 75%医用酒精全面喷洒擦拭细胞培养瓶，转移入超净工作台。
2. 去除瓶口封口膜，再用蘸有 75%医用酒精的洁净无纺布擦拭瓶口。
3. 镜下观察细胞，检查细胞是否出现大面积脱落，或大量死细胞。
4. 若一切正常，请将细胞培养瓶放入 CO<sub>2</sub> 培养箱内，静置至少 2 h，使运输过程中震落的细胞重新贴壁。
5. 从培养箱中取出细胞，镜下检查有无异常。
6. 若无异常，在超净工作台中打开培养瓶，吸取至少 2 份 1 mL 培养基至无菌的 EP 管中，妥善保存，以备检测。

**注意：**留样的细胞培养基请放置 4°C 冰箱保存。若细胞短期内出现污染，请取其中 1 份做微生物检测；若直到细胞第二次传代没有任何异常，则可丢弃样品。

7. 将细胞培养瓶中培养基均分，转移到两个 50 mL 离心管内，并向瓶中加入 4 mL 完全培养基。
8. 将培养基以 250×g 离心 4 min，收集上清中的悬浮细胞。
9. 弃去多余的培养基，用 1 mL 培养基重悬沉淀，将细胞转移入原培养瓶内。
10. 将细胞放入 37°C、5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的 CO<sub>2</sub> 培养箱中。
11. 每 3 天更换一次新鲜的培养基，直到细胞汇合度至 95%以上，即需传代。



## 细胞的传代

### 所需材料

- OriCell® 0.25%Trypsin-0.04%EDTA (货号: TEDTA-10001, 以下简称胰酶)
- OriCell® Phosphate-Buffered Saline (1×PBS) (货号: PBS-10001, 以下简称 PBS)
- 适宜细胞生长的完全培养基

### 操作步骤

1. 将完全培养基、PBS、胰酶预热至 37°C。
2. 将培养容器中的培养基转移至离心管内。
3. 用 PBS (T25 培养瓶加入约 3 mL, T75 培养瓶加入约 6 mL) 洗涤细胞 2 次, 注意动作轻柔, 清洗全面, 将洗涤过的 PBS 移至离心管内。
4. 加入胰酶 (T25 培养瓶加入约 1.5 mL, T75 培养瓶加入约 3 mL), 迅速铺匀, 保证充分接触细胞表面。
5. 显微镜下观察消化情况, 约 70%~80%细胞收缩变圆后, 轻拍培养容器外壁, 使细胞脱离培养表面。
6. 立即加入完全培养基 (T25 培养瓶加入约 3 mL, T75 培养瓶加入约 6 mL), 随即轻摇培养容器, 使培养基和胰酶迅速混匀, 终止消化。
7. 使用吸管或移液管吸取细胞悬液, 吹打培养容器底面数次, 尽可能将细胞都吹打下来。  
**注意:** 吹打动作不可剧烈, 避免产生大量气泡, 否则可能损伤和损失细胞。
8. 将细胞悬液转移至离心管中。用 PBS (T25 培养瓶加入约 3 mL, T75 培养瓶加入约 6 mL) 洗涤容器 1 次, 收集残留细胞。
9. 收集的所有细胞悬液以 250×g 离心 4 min。
10. 离心后去除上清。加入 2 mL 完全培养基, 轻柔吹打细胞沉淀, 充分吹散、混匀。
11. 将细胞按  $(2\sim3) \times 10^4$  个活细胞/cm<sup>2</sup> 接种至适宜的培养容器内。  
**注意:** 我们建议有条件且计数效率较高的情况下, 进行手工计数, 以期获得精准的细胞浓度指导接种; 在没有精确计数条件的情况下, 按照适宜比例传代是更好的方法。通常 OriCell® NCI-H446 细胞传代比例为 1:3~1:4, 100 h 内生长至可传代汇合度。请根据细胞实际情况调整传代比例。
12. 摇匀细胞, 放入 37°C、5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的 CO<sub>2</sub> 培养箱中。
13. 传代次日, 观察细胞状态。若发现较多漂浮细胞, 应予以换液。
14. 每 3 天更换一次新鲜的培养基, 待细胞汇合度至 95%以上, 即需传代或冻存。

## 细胞的冻存

### 所需材料

- OriCell® 通用无蛋白非程序冻存液 (货号: NCPF-10001)
- OriCell® 通用血清型非程序冻存液 (货号: NCRC-10001)

### 操作步骤

1. 待细胞生长至可传代的密度, 即可准备冻存。
2. 细胞消化请参考 OriCell® NCI-H446 细胞的传代操作步骤 1-9。
3. 离心后去除上清, 用适量冻存液均匀重悬细胞。
4. 将细胞按比例或数量分装至冻存管中。  
**注意:** 在没有成熟的计数条件下, 我们建议将细胞按比例分装冻存即可, 长时间在非培养条件下放置会严重影响细胞的状态。在计数时, 我们建议将细胞放置于 4°C 冰箱内, 以减弱细胞代谢, 较好地保持细胞状态。
5. 若选用 OriCell® 非程序冻存液, 请将冻存管直接分散放入 -80°C 冰箱中。  
**注意:** 细胞冻存期间, 特别是冻存的前 4 h 内, 不可打开冰箱门, 这将严重影响细胞冷冻存活率。
6. 8 h 后即可将细胞转移入液氮长期保存。  
**注意:** 细胞不可长期保存在 -80°C 冰箱中。我们建议在 -80°C 冰箱中的保存时间不要超过 48 h。

赛业 (广州) 生物科技有限公司保留 OriCell® 细胞培养产品技术文件的所有权利。

没有赛业 (广州) 生物科技有限公司的书面许可, 本文件的任何部分,

不得改编或转载用作其他商业用途。